

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

REF GXMTB/RIF-ULTRA-10

REF GXMTB/RIF-ULTRA-50

Návod k použití

IVD CE

Prohlášení o ochranných známkách, patentech a autorských právech

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2017–2023 Cepheid.

Cepheid[®], logo Cepheid, GeneXpert[®] a Xpert[®] jsou ochranné známky společnosti Cepheid registrované v USA a dalších zemích.

Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem jejich příslušných vlastníků.

NÁKUPEM TOHOTO PRODUKTU SE NA KUPUJÍCÍHO PŘEVÁDÍ NEPŘEVODITELNÉ PRÁVO PRODUKT POUŽÍVAT V SOULADU S TÍMTO NÁVODEM K POUŽITÍ. NEPŘEVÁDÍ SE ŽÁDNÁ DALŠÍ PRÁVA, A TO VÝSLOVNĚ, NEPŘÍMO ANI PODLE ZÁSADY ESTOPPEL. DÁLE SE S PRODEJEM TOHOTO PRODUKTU NEPŘEVÁDÍ ŽÁDNÁ PRÁVA NA OPAKOVANÝ PRODEJ.

© 2017–2023 Cepheid.

Popis změn viz Část 21, Historie revizí.

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

Pro diagnostické použití *in vitro*

1 Vlastnický název

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

2 Běžný nebo obvyklý název

Xpert MTB/RIF Ultra

3 Určené použití

Test Xpert MTB/RIF Ultra prováděný na přístrojových systémech GeneXpert[®] Instrument Systems je semikvantitativní *in vitro* diagnostický test nested polymerázové řetězové reakce (PCR) v reálném čase pro detekci DNA komplexu *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) ve vzorcích nezpracovaného sputa nebo koncentrovaných sedimentů připravených z indukovaného nebo spontánního sputa. Ve vzorcích, v nichž je detekován komplex *Mycobacterium tuberculosis*, může test Xpert MTB/RIF Ultra detekovat i mutace genu *rpoB* spojené s rezistencí na rifampin.

Test Xpert MTB/RIF Ultra je určen pro použití se vzorky od pacientů, u nichž panuje klinické podezření na tuberkulózu (TBC) a kteří se nepodrobili žádné léčbě tuberkulózy, nebo se během posledních 6 měsíců léčili méně než 3 dny. Test je zamýšlen jako pomůcka při diagnóze plicní tuberkulózy, kdy je používán společně s klinickými a jinými laboratorními nálezy.

4 Souhrn a vysvětlení

Celosvětově je MTB infikováno přibližně 1,7 miliard osob.¹ V r. 2018 se u 10,0 milionů osob vyvinulo aktivní onemocnění a 1,45 milionů osob přišlo z důvodu nemoci o život.² Plicní TBC se přenáší vzduchem, což ji činí vysoce přenosným onemocněním. Vzhledem k infekční povaze plicní TBC je rychlá a přesná diagnóza důležitým prvkem léčby a kontroly TBC.

Léčba zahrnuje dlouhodobé podávání několika léčiv a obvykle je vysoce efektivní. Kmeny *M. tuberculosis* se však mohou stát rezistentní na jeden nebo více léků, což výrazně ztěžuje dosažení vyléčení. Čtyři běžná léčiva první linie používaná k léčbě tuberkulózy jsou isoniazid (INH), rifampin (také známý jako rifampicin, RIF), etambutol (EMB) a pyrazinamid (PZA). Jak je zdokumentováno Světovou zdravotnickou organizací (World Health Organization, WHO), rezistence na RIF je zřídka pozorována osamoceně a obvykle naznačuje rezistenci na několik dalších léčiv proti TBC.³ Nejběžněji se vyskytuje u kmenů rezistentních na více léčiv proti TBC (MDR-TB) (definováno jako rezistence na RIF i INH) a její hlášená četnost v takových izolátech je vyšší než 95%.^{4,5,6} Rezistence na RIF nebo jiné léky první linie obvykle značí na nutnost plného testování citlivosti, včetně testů proti agens druhé linie.

Molekulární detekce TBC a mutací genů *rpoB* spojených s rezistencí na RIF výrazně snižuje dobu do diagnózy tuberkulózy citlivé na léčiva i MDR. Pomocí testu Xpert MTB/RIF Ultra toho lze ve vzorcích nezpracovaného sputa a v připravených sedimentech dosáhnout za méně než 80 minut. Rychlá detekce MTB a rezistence na RIF lékaři umožňuje přistupovat na kritická rozhodnutí o péči o pacienta s ohledem na léčbu již během jediné lékařské konzultace.

5 Princip postupu

Přístrojové systém GeneXpert Instrument Systems integrují a automatizují zpracování vzorku, amplifikaci nukleových kyselin a detekci cílových sekvencí v jednoduchých nebo komplexních vzorcích pomocí PCR v reálném čase a detekci vrcholu tání. Systém sestává z přístroje, osobního počítače, snímače čárových kódů a předem načteného softwaru pro zpracování testů na vzorcích a zobrazení výsledků. Systém vyžaduje použití jednorázových kazet GeneXpert, které obsahují reagenzie PCR a ve kterých probíhá proces PCR. Protože kazety jsou uzavřené a soběstačné, minimalizuje se tak zkřížená kontaminace mezi vzorky. Úplný popis systému najdete v dokumentu *GeneXpert Dx System Operator Manual*, *GeneXpert Edge System User's Guide* nebo *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Test Xpert MTB/RIF Ultra obsahuje reagenzie pro detekci MTB a rezistence na RIF a kontrolu zpracování vzorku (SPC) pro kontrolu dostatečného zpracování cílových bakterií a ke sledování přítomnosti inhibitorů v reakci PCR a následné detekci vrcholu tání. Kontrolní systém sondy (PCC) ověřuje rehydrataci reagenzie, plnění PCR zkumavky v kazetě, neporušenost sondy a stabilitu barviva.

Primery v testu Xpert MTB/RIF Ultra amplifikují část genu *rpoB* obsahující 81bázový párový „hlavní“ region a části cílových sekvencí vsuvkových prvků s vícečetnými kopiemi *IS1081* a *IS6110*. Analýza tání se čtyřmi sondami *rpoB* je schopná rozlišit mezi konzervovanou sekvencí divokého typu a mutacemi v hlavním regionu, které jsou spojeny s rezistencí na RIF. Dvě sondy vsuvkových prvků zvyšují detekci komplexu *Mycobacterium tuberculosis* díky cílovým sekvencím vsuvkových prvků s vícečetnými kopiemi ve většině kmenů TBC.

6 Reagenzie a přístroje

6.1 Dodané materiály

Soupravy testu Xpert MTB/RIF Ultra obsahují dostatečné množství reagenzií ke zpracování 10 vzorků nebo 50 vzorků. Obsah souprav:

Xpert MTB/RIF Ultra Kazety s integrovanými reakčními zkumavkami	10 v každé soupravě	50 v každé soupravě
<ul style="list-style-type: none"> • Perlička 1 a perlička 2 (sušené mrazem) • Perlička 3 (sušená mrazem) • Reagenzie 1 • Reagenzie 2 	2 od každé v každé kazetě 1 od každé v každé kazetě 4 ml v každé kazetě 4 ml v každé kazetě	2 od každé v každé kazetě 1 od každé v každé kazetě 4 ml v každé kazetě 4 ml v každé kazetě
Láhve se vzorkovou reagenzií	10	50
<ul style="list-style-type: none"> • Vzorková reagenzie 	8 ml na lahvičku	8 ml na lahvičku
Jednorázové přenosové pipety	12 v každé soupravě	60 v každé soupravě
CD	1 v každé soupravě	1 v každé soupravě
<ul style="list-style-type: none"> • Soubory definice analýzy (ADF) • Pokyny k importu ADF do softwaru • Návod k použití (příbalová informace) 		

Poznámka Vzorkové reagenzie (SR) mohou být bezbarvé, žlutavé až jantarové. Intenzita barvy se může časem zvyšovat, barva však nemá žádný vliv na účinnost.

Poznámka Bezpečnostní listy (SDS) jsou k dispozici na webu www.cepheid.com nebo www.cepheidinternational.com na kartě **PODPORA (SUPPORT)**.

Poznámka Hovězí sérový albumin (BSA) v perličkách v tomto produktu byl vyroben výhradně z hovězí plazmy pocházející ze Spojených států amerických. Zvířata nebyla krmena bílkovinami pocházejícími z přežvýkavců či jiných zvířat; zvířata prošla testy ante-mortem i post-mortem. V průběhu zpracování nedocházelo k žádnému směšování materiálů s jinými zvířecími materiály.

Poznámka

Přenosové pipety mají jednu značku představující minimální objem zpracovávaného vzorku nutný k přenosu do kazety. Používejte pouze k tomuto účelu. Všechny ostatní pipety musí poskytnout laboratoř.

6.2 Skladování a manipulace

- Kazety testu Xpert MTB/RIF Ultra skladujte při 2–28 °C.
- Víko kazety neotevírejte, pokud nejste připraveni k provedení testu.
- Nepoužívejte reagentie nebo kazety s prošlým datem expirace.

7 Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

- GeneXpert Dx System, GeneXpert Infinity System nebo GeneXpert Edge System (katalogové číslo se liší podle konfigurace): Přístroj GeneXpert, počítač s proprietárním softwarem GeneXpert verze 4.7b nebo vyšší (GeneXpert Dx System), Xpertise™ verze 6.4b nebo vyšší (GeneXpert Infinity System), softwarem GeneXpert Edge verze 1.0 (GeneXpert Edge System), čtečka čárových kódů a příručka obsluhy
- Tiskárna: Pokud požadujete tiskárnu, kontaktujte prodejního zástupce společnosti Cepheid a sjednejte si nákup doporučené tiskárny.
- Nepropustné sterilní nádoby pro odběr se šroubovým uzávěrem
- Jednorázové rukavice
- Štítky a/nebo nesmazatelný popisovač
- Sterilní pipety pro zpracování vzorků

8 Varování, bezpečnostní opatření a chemická nebezpečí

8.1 Varování a bezpečnostní upozornění


- Se všemi biologickými vzorky, včetně použitých kazet, zacházejte jako s potenciálně schopnými přenosu infekčních agens. Protože často není možné vědět, které vzorky mohou být infekční, se všemi biologickými vzorky je třeba zacházet se standardními bezpečnostními opatřeními. Pokyny pro manipulaci se vzorky jsou k dispozici od center pro kontrolu a prevenci onemocnění⁷ USA (U.S. Centers for Disease Control and Prevention) a od Institutu pro klinické a laboratorní standardy (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁸
- Při manipulaci se vzorky a reagentii používejte jednorázové ochranné rukavice, laboratorní pláště a ochranné brýle. Po manipulaci se vzorky a testovacími reagentii si důkladně umyjte ruce.
- Při práci s chemikáliemi a manipulaci s biologickými vzorky dodržujte bezpečnostní postupy vašeho zdravotnického zařízení.
- Nenahrazujte reagentie testu Xpert MTB/RIF Ultra jinými reagentii.
- Neotevírejte víko kazety testu Xpert MTB/RIF Ultra, pokud nepřidáváte zpracovávaný vzorek.
- Nepoužívejte kazetu, která po vyjmutí ze soupravy upadla.
- Nepoužívejte kazetu, která po přidání a ošetření vzorku upadla, byla protřepána nebo jejíž obsah se vylil. Protřepání nebo upuštění kazety po otevření víka může způsobit falešné nebo neurčité výsledky.
- Štítek s ID vzorku neumísťujte na víko kazety ani na štítek s čárovým kódem.
- Nepoužívejte kazetu, pokud se zdá být vlhká nebo pokud se zdá, že je porušené těsnění víka.
- Nepoužívejte kazetu s poškozenou reakční zkumavkou.
- Při zpracování více než jednoho vzorku najednou otevřete pouze jednu kazetu; před zpracováním dalšího vzorku přidejte vzorek ošetřený vzorkovou reagentii a zavřete kazetu víka. Mezi vzorky si vyměňte rukavice.
- Každá kazeta testu Xpert MTB/RIF Ultra se používá ke zpracování jednoho testu. Zpracované kazety nepoužívejte opakovaně.
- Je nutné dodržovat správnou laboratorní praxi a vyměňovat rukavice při manipulaci mezi jednotlivými vzorky, abyste zabránili kontaminaci vzorků nebo reagentii. Pravidelně čistěte pracovní povrchy/oblasti 10% chlorovým bělidlem, poté povrch otřete znovu 70% etanolem nebo isopropylalkoholem, a to před a po zpracování vzorků.
- Biologické vzorky, přenosové prostředky a použité kazety je nutné považovat za schopné přenosu infekčních agens a vyžadující standardní bezpečnostní opatření. Při správné likvidaci použitých kazet a nepoužitých reagentii dodržujte postupy vašeho zdravotnického zařízení pro ekologickou likvidaci odpadu. Tyto materiály mohou vykazovat charakteristiky chemického nebezpečného odpadu vyžadujícího dodržování specifických národních nebo regionálních postupů pro likvidaci. Pokud národní nebo regionální předpisy neobsahují jasné pokyny ke správné likvidaci, biologické

vzorky a použité kazety je třeba likvidovat podle pokynů Světové zdravotnické organizace (World Health Organization, WHO) k manipulaci se zdravotnickým odpadem a k jeho likvidaci.

8.2 Chemická nebezpečí^{9,10}

Vzorková reagencie

- Obsahuje isopropylalkohol
- Obsahuje hydroxid sodný
- Signální slovo: NEBEZPEČÍ

- Piktogramy pro nebezpečí podle Globálně harmonizovaného systému klasifikace OSN: 

Věty o nebezpečnosti podle Globálně harmonizovaného systému klasifikace OSN

- Hořlavá kapalina a páry
- Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
- Způsobuje vážné poškození očí.
- Podezření na genetické poškození.
- Podezření na poškození reprodukční schopnosti nebo plodu v těle matky.
- Způsobuje poškození orgánů při prodloužené nebo opakované expozici.

P-věty

Prevence

- Před použitím si obstarejte speciální instrukce.
- Nepoužívejte, dokud jste si nepřečetli všechny bezpečnostní pokyny a neporozuměli jim.
- Chraňte před teplem, jiskrami, otevřeným ohněm a horkými povrchy. Zákaz kouření.
- Uchovávejte obal těsně uzavřený.
- Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/páry/aerosoly.
- Po manipulaci důkladně omyjte.
- Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.
- Používejte požadované osobní ochranné prostředky.

Reakce

- V případě požáru: K hašení použijte vhodná média.
- PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste postiženého na čerstvý vzduch a ponechte jej v klidu v poloze usnadňující dýchání.
- Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.
- PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/ osprchujte.
- Kontaminovaný oděv před opětovným použitím vyperte.
- Konkrétní pokyny pro ošetření najdete v doplňkových informacích o první pomoci.
- PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně oplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny, a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
- PŘI POŽITÍ: Vypláchněte ústa. NEVYVOLÁVEJTE zvracení.
- PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
- Necítíte-li se dobře, vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

Skladování/likvidace

- Obsah a/nebo nádobu zlikvidujte v souladu s místními, regionálními, národními a/nebo mezinárodními předpisy.

9 Odběr, přeprava a skladování vzorků

Odběr vzorků

Pro odběr vzorku dodržujte protokol zdravotnického zařízení.

Sputum nebo aerosolem vyvolané sputum odeberte podle běžných postupů vašeho zdravotnického zařízení. Test provádějte na nezpracovaném sputu nebo koncentrovaném/dekontaminovaném sedimentu sputa. Pro stanovení dostatečného objemu vzorku viz tabulka níže.

Tabulka 1. Požadovaný objem vzorku

Typ vzorku	Minimální objem na jeden test	Maximální objem vzorku	Poměr vzorku na vzorkovou reagensii (SR)
Sediment sputa	0,5 ml	2,5 ml	1:3 ^a
Nezpracované sputum	1 ml	4,0 ml	1:2

^a U vzorku o objemu 0,7 ml nebo více na jeden test je nutné použít vzorek a SR v poměru 1:2.

Uskladnění a přeprava

Sediment sputa: Skladujte resuspendovaný sediment po dobu a sedmi dnů při teplotě 2–8 °C.

Nezpracované sputum: Pokud je to možné, převázejte a skladujte sputum před zpracováním při teplotě 2–8 °C. V případě potřeby lze nezpracované vzorky sputa skladovat při teplotě maximálně 35 °C po dobu nejvýše tří dnů a poté při teplotě 2–8 °C po dobu dalších sedmi dnů.

10 Postup testu

10.1 Postup pro dekontaminované, koncentrované sedimenty sputa

Poznámka Zahrňte vzorky s očividnými částicemi stravy nebo jiných pevných částic.

Požadavky na objem: Sedimenty sputa připravené podle metody Kent a Kubica¹¹ a resuspendované v 67 mM fosfátovém/H₂O pufru) lze testovat za použití testu Xpert MTB/RIF Ultra. Po resuspendaci uchovejte alespoň 0,5 ml resuspendovaného sedimentu pro test Xpert MTB/RIF Ultra. U všech objemů menších než 0,7 ml proveďte kroky 1–6. Tyto kroky vyžadují 3 díly vzorkové reagensie (SR) na 1 díl sedimentu, aby se vygeneroval dostatečný objem (~2 ml) pro optimální výkon testu.

Pokud je objem vzorku stejný nebo větší než 0,7 ml, lze dostatečný objem pro test vytvořit přidáním 2 dílů SR do 1 dílu sedimentu. V tomto příkladu je 1,4 ml SR přidáno do 0,7 ml sedimentu. Tyto objemy jsou stupňovány v poměru 2 dílů SR na 1 díl sedimentu.

1. Vytemperujte kazetu na pokojovou teplotu. Označte každou kazetu testu Xpert MTB/RIF Ultra ID vzorku. Viz Obrázek 1.

Poznámka Popište stranu kazety nebo připevněte štítek s ID. Nelepte štítek na víko kazety nebo přes stávající 2D čárový kód na kazetě.

2. Smíchejte sediment vortexováním nebo použijte pipetu několikrát a materiál aspirujte a vytlačte, abyste se ujistili, že jsou v suspenzi všechny organismy.

3. Použitím přenosové pipety přeneste 0,5 ml celkové resuspendované pelety do kónické zkumavky se šroubovým uzávěrem pro test Xpert MTB/RIF Ultra.

Poznámka Pokud nejsou opakovaně suspendované sedimenty zpracovány okamžitě, skladujte je při teplotě 2 až 8 °C. Neprovádějte test Xpert MTB/RIF Ultra na opakovaně suspendovaném sedimentu, který byl chlazen v chladničce > 7 dnů.

4. Použitím přenosové pipety přeneste 1,5 ml vzorkové reagensie (SR) Xpert MTB/RIF Ultra do 0,5 ml opakovaně suspendovaného sedimentu. Pevně utáhněte uzávěr.

5. Řádně 10krát až 20krát protřepejte nebo míchejte vortexováním po dobu alespoň 10 vteřin.

Poznámka Jeden pohyb dopředu a dozadu je jedno zatřepání.

6. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 10 minut a poté vzorek řádně 10krát až 20krát protřepejte nebo míchejte vortexováním po dobu alespoň 10 vteřin.
7. Inkubujte vzorek při pokojové teplotě dalších 5 minut.

10.2 Postup s nezpracovaným sputem

Požadavek na objem: je vyžadováno ≥ 1 ml nezpracovaného sputa.

1. Vytéperujte kazetu na pokojovou teplotu. Označte každou kazetu testu Xpert MTB/RIF Ultra ID vzorku. Viz Obrázek 1.

Poznámka Popište stranu kazety nebo připevňte štítek s ID. Nelepte štítek na víko kazety nebo přes stávající 2D čárový kód na kazetě.



Obrázek 1. Popis kazety permanentním popisovačem

2. Po obdržení vzorku v nepropustné nádobě na odběr sputa opatrně otevřete víko nádoby na odběr sputa a zkontrolujte obsah, abyste se ujistili, že neobsahuje žádné částice stravy nebo jiné pevné částice.

Poznámka Zavrhněte vzorky s očividnými částicemi stravy nebo jiných pevných částic.



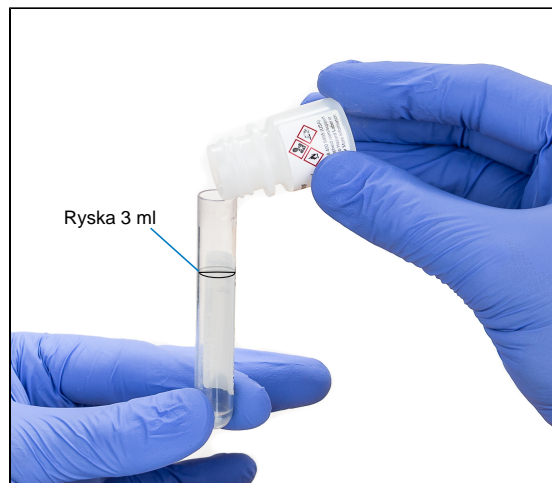
Obrázek 2. Otevření nádoby se vzorkem

3. Nalijte do sputa přibližně dvojnásobný objem SR (roztok SR:sputum je 2:1).

Poznámka Zlikvidujte zbývající SR a láhev v nádobě na chemický odpad.



Obrázek 3. Příklad roztoku 2:1 (8 ml SR:4 ml sputa)



Obrázek 4. Příklad roztoku 2:1 (2 ml SR:1 ml sputa)

4. Znovu nasad'te a zajist'ete v'iko. Řádně 10krát až 20krát protřepajte nebo míchejte vortexováním po dobu alespoň 10 vteřin.

Poznámka Jeden pohyb dopředu a dozadu je jedno zatřepání.

5. Inkubujte vzorek po dobu 10 minut při pokojové teplotě.
6. Řádně vzorek 10krát až 20krát protřepajte nebo míchejte vortexováním po dobu alespoň 10 vteřin. Inkubujte vzorek při pokojové teplotě dalších 5 minut.

Poznámka Ujist'ete se, že je vzorek zcela zkapalněn. Pokud není vzorek zkapalněn, zopakujte tento krok.

10.3 Příprava kazety

Poznámka Při použití systému GeneXpert Dx System nebo GeneXpert Edge System zahajte test do 4 hodin od přidání vzorku do kazety. Po přidání vzorku do kazety musí být kazeta před zahájením testu uchovávána při pokojové teplotě a použita do čtyř hodin. Pokud používáte systém GeneXpert Infinity System, spusťte test a umístěte kazetu na přepravník do 30 minut od přidání vzorku ošetřeného vzorkovou reagentií do kazety. Software Xpertise sleduje zbývající dobu skladovatelnosti, aby testy byly provedeny před uplynutím 4hodinové doby expirace v systému.

1. Otevřete víko kazety a poté otevřete nádobu se vzorkem.
2. Za použití přiložené přenosové pipety aspirujte zkvalněný vzorek těsně nad linku na pipetě. Viz Obrázek 5. Není-li dostatečný objem, nepokračujte v dalším zpracování vzorku.



Obrázek 5. Aspirace po linku na pipetě

3. Přeneste vzorek do vzorkové komory kazety Xpert MTB/RIF Ultra. Dávkujte vzorek pomalu, aby se minimalizovalo riziko tvorby aerosolu. Viz Obrázek 6.



Obrázek 6. Nadávkování dekontaminovaného zkvalněného vzorku do vzorkové komory kazety

4. Pevně zavřete víko kazety. Zbývající zkvalněný vzorek lze uchovávat až 4 hodiny při teplotě 2 až 8 °C pro případ, že bude nutné test opakovat.

11 Zpracování testu

- Pro systém viz Část 11.1.
- Pro systém viz Část 11.2.
- Pro systém viz Část 11.3.

11.1 GeneXpert Dx System

11.1.1 Spuštění testu

Před spuštěním testu se ujistěte, že:

- Důležité**
- Systém používá správnou verzi softwaru GeneXpert Dx uvedenou v části Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky.
 - Do softwaru byl importován správný soubor definice analýzy.

Tato část uvádí základní kroky při zpracování testu. Podrobné pokyny uvádí *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Poznámka Postup se může lišit, pokud správce systému změnil výchozí pracovní postup systému.

1. Zapněte systém GeneXpert Dx System, poté zapněte počítač a přihlaste se. Software GeneXpert se spustí automaticky. Pokud tomu tak není, dvakrát klikněte na ikonu zástupce softwaru GeneXpert Dx na ploše Windows®.
2. Přihlaste se svým uživatelským jménem a heslem.
3. V okně **systému GeneXpert** klikněte na tlačítko **Vytvořit test (Create Test)**. Zobrazí se okno **Vytvořit test (Create Test)**. Objeví se dialogové okno **Naskenovat čárový kód ID pacienta (Scan Patient ID barcode)**.
4. Naskenujte nebo zadejte ID pacienta. Pokud ID pacienta (Patient ID) zadáváte, dbejte, aby bylo zadáno správně.

ID pacienta (Patient ID) je spojeno s výsledky testu a je zobrazeno v okně **Zobrazit výsledky (View Results)**. Objeví se dialogové okno **Naskenovat čárový kód ID vzorku (Scan Sample ID barcode)**.

- Oskenujte nebo zadejte ID vzorku (Sample ID). Pokud zadáváte ID vzorku (Sample ID), dbejte, aby bylo zadáno správně.
ID vzorku (Sample ID) je spojeno s výsledky testu a je zobrazeno v okně **Zobrazit výsledky (View Results)** a ve všech zprávách. Objeví se dialogové okno **Naskenovat čárový kód kazety (Scan Cartridge Barcode)**.
- Oskenujte čárový kód kazety. Pomocí informací z čárového kódu software automaticky vyplní následující pole: Výběr analýzy (Select Assay), ID šarže reagensie (Reagent Lot ID), Sériové číslo kazety (Cartridge SN) a Datum expirace (Expiration Date).

Poznámka

Pokud se čárový kód na kazetě neoskenuje, opakujte test s novou kazetou. Pokud jste naskenovali čárový kód kazety v softwaru a soubor definice analýzy není k dispozici, otevře se obrazovka s informací, že v systému není načten soubor definice analýzy. Pokud se zobrazí tato obrazovka, kontaktujte technickou podporu společnosti Cepheid.

- Klikněte na tlačítko **Spustit test (Start Test)**. Do dialogového okna, které se objeví, zadejte své heslo, pokud je vyžadováno.
- Otevřete dvířka modulu přístroje s blikajícím zeleným světlem a založte kazetu.
- Zavřete dvířka. Spustí se test a zelené světlo přestane blikat.
Po dokončení testu světlo zhasne.
- Před otevřením dvířek modulu a vyjmutím kazety počkejte, až systém uvolní zámek dvířek.
- Použité kazety zlikvidujte do vhodné odpadové nádoby na vzorky podle standardní praxe vašeho zdravotnického zařízení.

11.1.2 Zobrazení a tisk výsledků

Tato část uvádí základní kroky při zobrazení a tisku výsledků. Podrobnější pokyny k zobrazení a tisku výsledků uvádí *Příručka obsluhy systému GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

- Výsledky zobrazíte kliknutím na ikonu **Zobrazení výsledků (View Results)**.
- Po dokončení testu klikněte na tlačítko **Zpráva (Report)** v okně **Zobrazení výsledků (View Results)** pro zobrazení a/nebo vytvoření PDF souboru zprávy.

11.2 GeneXpert Edge System

(Nemusi být dostupné ve všech zemích.)

11.2.1 Zahájení nového testu

Další test může být zahájen v průběhu prvního testu.

- Stiskněte tlačítko **DOMŮ (HOME)**.
Na obrazovce **Domů (Home)** se zobrazuje používaný modul ve světle šedé barvě a s poznámkou, že probíhá sběr dat.
- Stiskněte tlačítko **SPUSTIT NOVÝ TEST (RUN NEW TEST)** a pokračujte novým testem podle kroků, které uvádí Spuštění testu.
- Po zahájení druhého testu stiskněte tlačítko **DOMŮ (HOME)**.
Zobrazí se stav obou testů. Po dokončení testu se text ikony změní na **Sběr dat dokončen (Data collection complete)** a na ikoně se objeví symbol zaškrtnutí.
- Klepnutím na ikonu **Sběr dat dokončen (Data collection complete)** otevřete obrazovku **Vyjmout kazetu (Remove Cartridge)**. Při vyjímání kazety postupujte podle pokynů na obrazovce.

11.2.2 Zobrazení a tisk výsledků

Tato část uvádí základní kroky při zobrazení a tisku výsledků. Podrobnější pokyny k zobrazení a tisku výsledků viz *GeneXpert Edge System User's Guide*.

Poznámka

Pokud výsledky hlásíte prostřednictvím systému LIS, potvrďte, že výsledky LIS odpovídají výsledkům LIS pro dané pole ID pacienta; pokud výsledky nesouhlasí, nahlaste pouze výsledky systému.

1. Stiskněte tlačítko **ZOBRAZIT PŘEDCHOZÍ TESTY (VIEW PREVIOUS TESTS)** na **Domácí (Home)** obrazovce.
2. Na obrazovce **Vybrat test (Select Test)** vyberte test tak, že se dotknete názvu testu, nebo jej vyberete pomocí šipek.

11.3 GeneXpert Infinity System

11.3.1 Spuštění testu

Před spuštěním testu se ujistěte, že:

- Důležité**
- Systém používá správnou verzi softwaru Xpertise uvedenou v části Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky.
 - Do softwaru byl importován správný soubor definice analýzy.

Tato část uvádí základní kroky při zpracování testu. Podrobné pokyny uvádí *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Poznámka Postup se může lišit, pokud správce systému změnil výchozí pracovní postup systému.

1. Zapněte přístroj. Software Xpertise se spustí automaticky. Pokud tomu tak není, dvakrát klikněte na ikonu zástupce softwaru Xpertise na ploše Windows®.
2. Přihlaste se k počítači a poté se přihlaste do softwaru GeneXpert Xpertise pomocí vašeho uživatelského jména a hesla.
3. V pracovním prostoru **Domovská stránka softwaru Xpertise** klikněte na **Objednávky (Orders)** a v pracovním prostoru **Objednávky (Orders)** klikněte na **Objednat test (Order Test)**.
Objeví se pracovní prostor **Objednat test – ID pacienta (Order Test - Patient ID)**.
4. Naskenujte nebo zadejte ID pacienta. Pokud ID pacienta (Patient ID) zadáváte, dbejte, aby bylo zadáno správně. ID pacienta (Patient ID) je spojeno s výsledky testu a je zobrazeno v okně **Zobrazit výsledky (View Results)**.
5. Zadejte případné další informace požadované vaší institucí a klikněte na tlačítko **POKRAČOVAT (CONTINUE)**.
Objeví se pracovní prostor **Objednat test – ID vzorku (Order Test - Sample ID)**.
6. Oskenujte nebo zadejte ID vzorku (Sample ID). Pokud zadáváte ID vzorku (Sample ID), dbejte, aby bylo zadáno správně.
ID vzorku (Sample ID) je spojeno s výsledky testu a je zobrazeno v okně **Zobrazit výsledky (View Results)** a ve všech zprávách.
7. Klikněte na tlačítko **POKRAČOVAT (CONTINUE)**.
Objeví se pracovní prostor **Objednat test – analýzu (Order Test - Assay)**.
8. Oskenujte čárový kód kazety. Pomocí informací z čárového kódu software automaticky vyplní následující pole: Výběr analýzy (Select Assay), ID šarže reagentie (Reagent Lot ID), Sériové číslo kazety (Cartridge SN) a Datum expirace (Expiration Date).

Poznámka

Pokud se čárový kód na kazetě neoskenuje, opakujte test s novou kazetou. Pokud jste naskenovali čárový kód kazety v softwaru a soubor definice analýzy není k dispozici, otevře se obrazovka s informací, že v systému není načten soubor definice analýzy. Pokud se zobrazí tato obrazovka, kontaktujte technickou podporu společnosti Cepheid.

Po naskenování kazety se objeví pracovní prostor **Objednat test – informace o testu (Order Test - Test Information)**.

9. Ověřte správnost informací a klikněte na **Odeslat (Submit)**. Do dialogového okna, které se objeví, zadejte své heslo, pokud je vyžadováno.
10. Umístěte kazetu na pás přepravníku.
Kazeta se automaticky založí, proběhne test a použitá kazeta bude umístěna do odpadové nádoby.

11.3.2 Zobrazení a tisk výsledků

Tato část uvádí základní kroky při zobrazení a tisku výsledků. Podrobnější pokyny k zobrazení a tisku výsledků viz *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. V pracovním prostoru **Domovská stránka softwaru Xpertise** klikněte na ikonu **VÝSLEDKY (RESULTS)**. Objeví se nabídka **Výsledky (Results)**.
2. V nabídce **Výsledky (Results)** vyberte tlačítko **ZOBRAZIT VÝSLEDKY (VIEW RESULTS)**. Objeví se pracovní prostor **Zobrazení výsledků (View Results)** s výsledky testu.
3. Klikněte na tlačítko **ZPRÁVA (REPORT)** pro zobrazení a/nebo vygenerování souboru PDF se zprávou.

12 Kontrola kvality

Každý test zahrnuje kontrolu zpracování vzorku (Sample Processing Control, SPC) a kontrolní systém sondy (Probe Check Control, PCC).

Kontrola zpracování vzorku (SPC)

Zajišťuje správné zpracování vzorku. SPC obsahuje neinfekční spóry ve formě suché crusty spór, která je obsažena v každé kazetě pro ověření adekvátního zpracování MTB. SPC ověřuje, zda došlo k lýze MTB, zda jsou přítomny mikroorganismy a zda je zpracování vzorku adekvátní. Tato kontrola navíc detekuje inhibici testu PCR související se vzorkem v reálném čase.

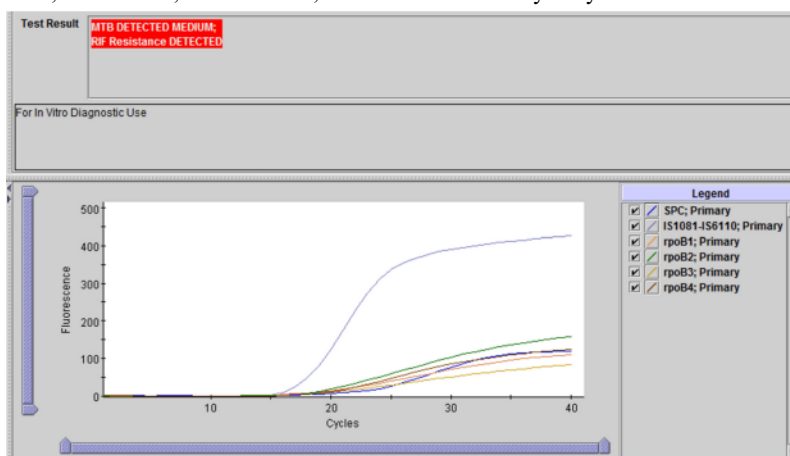
SPC musí být pozitivní v negativním vzorku a může být negativní nebo pozitivní v pozitivním vzorku. SPC vyhovuje, pokud splňuje validovaná kritéria přijatelnosti. Pokud nebude v negativním testu detekována SPC, bude výsledek testu označen jako „Neplatný“ (Invalid).

Systém kontroly sondy (PCC)

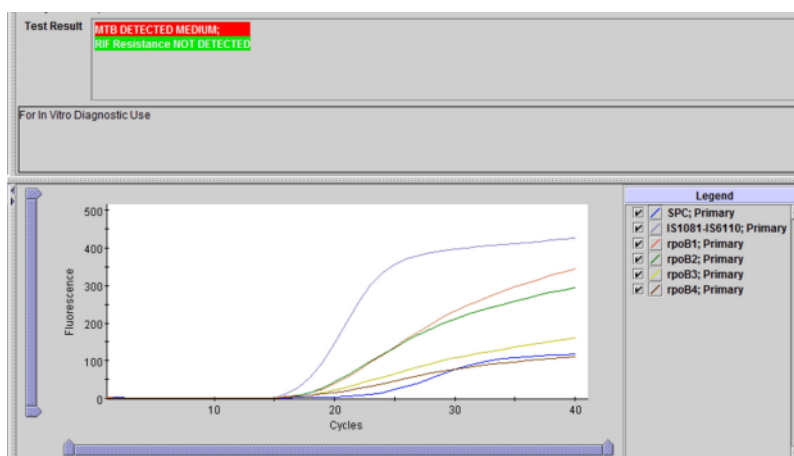
Před zahájením PCR reakce měří test Xpert MTB/RIF Ultra fluorescenční signál ze sond a monitoruje tak rehydrataci perliček, plnění reakční zkumavky, neporušenost sond a stabilitu barviva. PCC vyhovuje, pokud splňuje validovaná kritéria přijatelnosti.

13 Interpretace výsledků

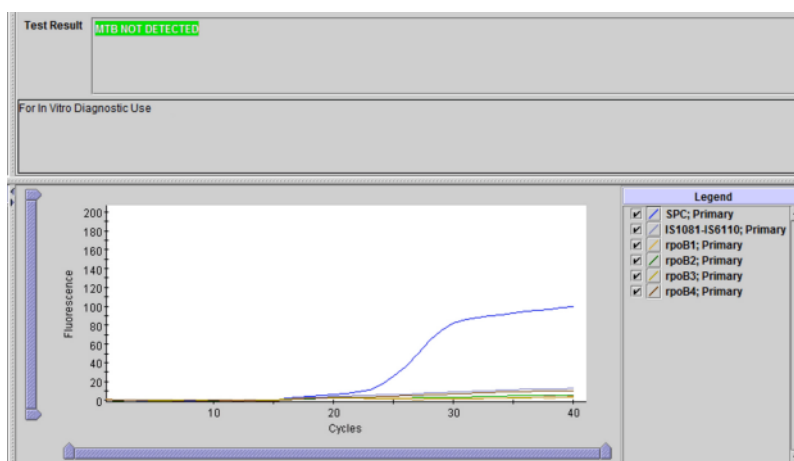
Přístrojový systém GeneXpert generuje výsledky z naměřených fluorescenčních signálů a vložených výpočetních algoritmů. Výsledky jsou zobrazeny v okně **View Results (Zobrazení výsledků)**. Konkrétní příklady uvádějí Obrázek 7, Obrázek 8, Obrázek 9, Obrázek 10, Obrázek 11, a Obrázek 12, a seznam všech možných výsledků uvádí Tabulka 3.



Obrázek 7. BYLA DETEKOVÁNA STŘEDNÍ HLADINA MTB; BYLA DETEKOVÁNA rezistence na RIF (podrobný náhled pro uživatele GeneXpert Dx)



Obrázek 8. BYLA DETEKOVÁNA STŘEDNÍ HLADINA MTB; NEBYLA DETEKOVÁNA rezistence na RIF (podrobný náhled pro uživatele GeneXpert Dx)



Obrázek 9. MTB NEBYLA DETEKOVÁNA (podrobný náhled pro uživatele GeneXpert Dx)

Patient/Sample ID 6319-2PUHP10T020	Cartridge S/N 681696130
Assay Xpert MTB-RIF Ultra	
Result MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED	Start Time 11/06/19 13:11:15
	User Name <None>
	Test Disclaimer For In Vitro Diagnostic Use Only.

Obrázek 10. BYLA DETEKOVÁNA NÍZKÁ HLADINA MTB; BYLA DETEKOVÁNA rezistence na RIF (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED) (GeneXpert Edge)

Patient/Sample ID 2PUHPILOT06	Cartridge S/N 681696113
Assay Xpert MTB-RIF Ultra	
Result MTB DETECTED LOW; RIF Resistance NOT DETECTED	Start Time 07/06/19 10:02:55
	User Name <None>
	Test Disclaimer For In Vitro Diagnostic Use Only.

Obrázek 11. BYLA DETEKOVÁNA NÍZKÁ HLADINA MTB; NEBYLA DETEKOVÁNA rezistence na RIF (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance NOT DETECTED) (GeneXpert Edge)

Patient/Sample ID 2PUHPILOT05	Cartridge S/N 681696136
Assay Xpert MTB-RIF Ultra	
Result MTB NOT DETECTED	Start Time 24/05/19 10:39:43
	User Name <None>
	Test Disclaimer For In Vitro Diagnostic Use Only.

Obrázek 12. MTB NEBYLA DETEKOVÁNA (MTB NOT DETECTED) (GeneXpert Edge)

Tabulka 2. Xpert MTB/RIF Ultra Výsledky a interpretace testu

Výsledek	Interpretace
BYLA DETEKOVÁNA VYSOKÁ HLADINA MTB; BYLA DETEKOVÁNA rezistence na RIF (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance DETECTED)	Ve vzorku je přítomen cíl MTB: <ul style="list-style-type: none"> • Byla detekována mutace v cílové sekvenci genu <i>rpoB</i>. • SPC: Neuplatňuje se (NA). Signál SPC není vyžadován, protože s touto kontrolou lze provést amplifikaci MTB. • Kontrola sondy: ÚSPĚŠNÁ (PASS). Všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
BYLA DETEKOVÁNA STŘEDNÍ HLADINA MTB; BYLA DETEKOVÁNA rezistence na RIF (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance DETECTED)	
BYLA DETEKOVÁNA NÍZKÁ HLADINA MTB; BYLA DETEKOVÁNA rezistence na RIF (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED)	
BYLA DETEKOVÁNA VELMI NÍZKÁ HLADINA MTB; BYLA DETEKOVÁNA rezistence na RIF (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance DETECTED)	
BYLA DETEKOVÁNA VYSOKÁ HLADINA MTB; NEBYLA DETEKOVÁNA rezistence na RIF (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance NOT DETECTED)	Ve vzorku je přítomen cíl MTB: <ul style="list-style-type: none"> • Nebyla detekována mutace v cílové sekvenci genu <i>rpoB</i>. • SPC: Neuplatňuje se (NA). Signál SPC není vyžadován, protože s touto kontrolou lze provést amplifikaci MTB. • Kontrola sondy: ÚSPĚŠNÁ (PASS). Všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
BYLA DETEKOVÁNA STŘEDNÍ HLADINA MTB; NEBYLA DETEKOVÁNA rezistence na RIF (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance NOT DETECTED)	
BYLA DETEKOVÁNA NÍZKÁ HLADINA MTB; NEBYLA DETEKOVÁNA rezistence na RIF (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance NOT DETECTED)	

Výsledek	Interpretace
BYLA DETEKOVÁNA VELMI NÍZKÁ HLADINA MTB; NEBYLA DETEKOVÁNA rezistence na RIF (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance NOT DETECTED)	
BYLA DETEKOVÁNA VYSOKÁ HLADINA MTB; rezistence na RIF je NEURČITÁ (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance INDETERMINATE)	<p>Ve vzorku je přítomen cíl MTB:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Rezistenci na RIF nelze stanovit z důvodu neplatných vrcholů tání. • SPC: Neuplatňuje se (NA). Signál SPC není vyžadován, protože s touto kontrolou lze provést amplifikaci MTB. • Kontrola sondy: ÚSPĚŠNÁ (PASS). Všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
BYLA DETEKOVÁNA STŘEDNÍ HLADINA MTB; rezistence na RIF je NEURČITÁ (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance INDETERMINATE)	
BYLA DETEKOVÁNA NÍZKÁ HLADINA MTB; rezistence na RIF je NEURČITÁ (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance INDETERMINATE)	
BYLA DETEKOVÁNA VELMI NÍZKÁ HLADINA MTB; rezistence na RIF je NEURČITÁ (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance INDETERMINATE)	
BYLY DETEKOVÁNY stopy MTB; rezistence na RIF je NEURČITÁ (MTB Trace DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)	
BYLY DETEKOVÁNY stopy MTB; rezistence na RIF je NEURČITÁ (MTB Trace DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)	<p>Ve vzorku je přítomen cíl MTB:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Rezistenci na RIF nelze stanovit z důvodu nedostatečné detekce signálu. • SPC: Neuplatňuje se (NA). Signál SPC není vyžadován, protože s touto kontrolou lze provést amplifikaci MTB. • Kontrola sondy: ÚSPĚŠNÁ (PASS). Všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
MTB NEBYLA DETEKOVÁNA (MTB NOT DETECTED)	<p>Ve vzorku není detekován cíl MTB:</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC: ÚSPĚŠNÁ (PASS). SPC splnila kritéria přijatelnosti. • Kontrola sondy: ÚSPĚŠNÁ (PASS). Všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.

Výsledek	Interpretace
NEPLATNÝ (INVALID)	<p>Přítomnost nebo nepřítomnost MTB nelze stanovit. SPC nespĺňuje akceptační kritéria, vzorek nebyl správně zpracován nebo PCR byla inhibována. Zopakujte test. Viz Postup při opakování testu v tomto dokumentu.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB NEPLATNÁ (INVALID): Přítomnost nebo nepřítomnost DNA MTB nelze stanovit. • SPC: NEÚSPĚCH (FAIL). Cílový výsledek MTB je negativní a SPC Ct není v platném rozmezí. • Kontrola sondy: ÚSPĚŠNÁ (PASS). Všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
CHYBA (ERROR)	<p>Přítomnost nebo nepřítomnost MTB nelze stanovit. Zopakujte test. Viz Postup při opakování testu v tomto dokumentu.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB: ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) • SPC: ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) • Kontrola sondy: NEÚSPĚCH (FAIL). Jeden nebo všechny výsledky kontroly sondy byly neúspěšné.
	<p>Poznámka Pokud byla kontrola sondy úspěšná, chyba je způsobena selháním komponenty systému.</p>
ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)	<p>Přítomnost nebo nepřítomnost MTB nelze stanovit. Zopakujte test. Viz Postup při opakování testu v tomto dokumentu. ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) znamená, že nebylo shromážděno dostatečné množství údajů. Například obsluha zastavila probíhající test.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB: ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) • SPC: ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) • Kontrola sondy: Neuplatňuje se (NA)

Tabulka 3. Xpert MTB/RIF Ultra: Všechny možné výsledky

Výsledky TB	Výsledky RIF
BYLA DETEKOVÁNA VYSOKÁ HLADINA MTB (MTB DETECTED HIGH)	Rezistence na RIF BYLA DETEKOVÁNA (RIF Resistance DETECTED)
BYLA DETEKOVÁNA VYSOKÁ HLADINA MTB (MTB DETECTED HIGH)	Rezistence na RIF NEBYLA DETEKOVÁNA (RIF Resistance NOT DETECTED)
BYLA DETEKOVÁNA VYSOKÁ HLADINA MTB (MTB DETECTED HIGH)	Rezistenci na RIF NELZE STANOVIT (RIF Resistance INDETERMINATE)
BYLA DETEKOVÁNA STŘEDNÍ HLADINA MTB (MTB DETECTED MEDIUM)	Rezistence na RIF BYLA DETEKOVÁNA (RIF Resistance DETECTED)
BYLA DETEKOVÁNA STŘEDNÍ HLADINA MTB (MTB DETECTED MEDIUM)	Rezistence na RIF NEBYLA DETEKOVÁNA (RIF Resistance NOT DETECTED)
BYLA DETEKOVÁNA STŘEDNÍ HLADINA MTB (MTB DETECTED MEDIUM)	Rezistenci na RIF NELZE STANOVIT (RIF Resistance INDETERMINATE)
BYLA DETEKOVÁNA NÍZKÁ HLADINA MTB (MTB DETECTED LOW)	Rezistence na RIF BYLA DETEKOVÁNA (RIF Resistance DETECTED)
BYLA DETEKOVÁNA NÍZKÁ HLADINA MTB (MTB DETECTED LOW)	Rezistence na RIF NEBYLA DETEKOVÁNA (RIF Resistance NOT DETECTED)
BYLA DETEKOVÁNA NÍZKÁ HLADINA MTB (MTB DETECTED LOW)	Rezistenci na RIF NELZE STANOVIT (RIF Resistance INDETERMINATE)

Výsledky TB	Výsledky RIF
BYLA DETEKOVÁNA VELMI NÍZKÁ HLADINA MTB (MTB DETECTED VERY LOW)	Rezistence na RIF BYLA DETEKOVÁNA (RIF Resistance DETECTED)
BYLA DETEKOVÁNA VELMI NÍZKÁ HLADINA MTB (MTB DETECTED VERY LOW)	Rezistence na RIF NEBYLA DETEKOVÁNA (RIF Resistance NOT DETECTED)
BYLA DETEKOVÁNA VELMI NÍZKÁ HLADINA MTB (MTB DETECTED VERY LOW)	Rezistenci na RIF NELZE STANOVIT (RIF Resistance INDETERMINATE)
Stopy MTB (MTB Trace) ^a DETEKOVÁNA	Rezistenci na RIF NELZE STANOVIT (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB NEBYLA DETEKOVÁNA (MTB NOT DETECTED)	
NEPLATNÝ (INVALID)	
CHYBA (ERROR)	
ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)	

^a Výsledek stopových hladin znamená, že je detekována nízká hladina MTB, není však detekován výsledek rezistence na RIF. K tomu dochází z důvodu zvýšené citlivosti při detekci TBC za použití cílů s vícečetnými kopiemi IS6110 a IS1081 oproti detekci rezistence na RIF za použití jedné kopie genu rpoB. Proto není ve vzorku Trace možné stanovit výsledek rezistence nebo citlivosti na RIF. Vzorek Trace má vždy **NEURČITOU rezistenci na RIF (RIF Resistance INDETERMINATE)**.

13.1 Důvody k opakování stanovení

Pokud dojde k některému z následujících výsledků testu, zopakujte test za použití nové kazety.

- **NEPLATNÝ (INVALID)** výsledek znamená, že selhala SPC. Vzorek nebyl správně zpracován nebo PCR je inhibována.
- Výsledek **CHYBA (ERROR)** znamená, že se nezdařila PCC a test byl přerušen možná z důvodu nesprávně naplněné reakční zkumavky, byl detekován problém s neporušeností sond, kvůli překročení maximálních tlakových limitů, nebo proto, že selhal modul GeneXpert.
- **ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)** znamená, že nebylo shromážděno dostatečné množství údajů. Například obsluha zastavila probíhající test.

13.2 Postup při opakování testu

Zbývá-li vám čerstvé sputum nebo rekonstituovaný sediment, vždy k dekontaminaci použijte nový SR a před spuštěním testu sputum nebo sediment zkapalňte. Viz Část 10 nebo Postup s nezpracovaným sputem.

Zbývá-li vám dostatečný objem vzorku ošetřeného SR a ještě neuběhly 4 hodiny od prvního přidání SR do vzorku, můžete zbývající vzorek použít k přípravě a zpracování nové kazety. Při opakovaném testování vždy použijte novou kazetu a zahajte test okamžitě. Viz Část 10.3.

14 Omezení

Protože detekce MTB závisí na počtu mikroorganismů přítomných ve vzorku, spolehlivé výsledky závisí na správném odběru, správné manipulaci a správném skladování vzorků. K chybným výsledkům testu může dojít z důvodu nesprávného odběru, zpracování a uskladnění vzorku, technické chyby, zaměnění vzorků nebo nedostatečné koncentrace výchozích materiálů. Aby se zabránilo chybným výsledkům, je nutné pečlivě dodržovat návod k použití.

Jednotlivci s výsledky **BYLA DETEKOVÁNA stopa MTB (MTB Trace DETECTED)** mohou v určitých situacích vyžadovat další klinické informace a zhodnocení jejich klinického kontextu, než se přistoupí na rozhodnutí o léčbě TBC.

Pozitivní výsledek testu nemusí nezbytně indikovat přítomnost životaschopných mikroorganismů. Lze z něj však předpokládat přítomnost rezistence na MTB a Rifampin.

Mutace nebo polymorfismy v regionech vazby primeru nebo sondy mohou ovlivnit detekci nových nebo neznámých MDR-MTB nebo kmenů rezistentních na rifampin, což vede k falešnému výsledku poukazujícímu na citlivost na rifampin.

Výkon testu Xpert MTB/RIF Ultra nebyl hodnocen u pacientů mladších osmnácti let.

Test Xpert MTB/RIF Ultra neposkytuje potvrzení o citlivosti na rifampin, jelikož mohou existovat jiné mechanismy rezistence na rifampin než ty, které tento prostředek detekuje, a ty mohou být spojeny s nedostatkem klinické odpovědi na léčbu.

Vzorky, ve kterých test Xpert MTB/RIF Ultra detekuje DNA komplexu MTB i mutace genu *rpoB* související s rezistencí na rifampin, je nutné zvážit pro dodatečné testování citlivosti na lék.

Výkon testu Xpert MTB/RIF Ultra je závislý na odbornosti operátora a dodržování postupů testu. Chyby v postupech při testech mohou způsobit falešně pozitivní nebo falešně negativní výsledky. Všichni operátoři musí mít příslušné školení k použití přístroje.

15 Klinický výkon

15.1 Koncepce klinické studie

Charakteristiky účinnosti Xpert MTB/RIF Ultra byly testovány z hlediska detekce DNA komplexu MTB a detekce mutací spojených s rezistencí na RIF ve vzorcích sputa ve srovnání s výsledky z kultur (tuhé a/nebo tekuté médium), respektive z hlediska testování citlivosti na lék (DST). V této multicentrické studii bylo použito prospektivní a archivované přímé (nezpracované) sputum nebo vzorky koncentrovaného sedimentu odebraného od subjektů starších 18 let. Subjekty zahrnovaly osoby s podezřením na TBC bez léčby TBC nebo s dobou léčby kratší 3 dnů během 6 měsíců před zahájením studie (podezření na TBC) i subjekty, které se dříve léčily na TBC a u nichž bylo podezření na rezistenci na více léčiv proti TBC (subjekty s MDR TBC). Studie probíhala po celém světě (Bělorusko, Brazílie, Čína, Gruzie, Německo, Japonsko, Indie, Itálie, Keňa, Peru, Jižní Afrika, Uganda, Vietnam a USA). Senzitivita a specifita testu Xpert MTB/RIF Ultra na detekci MTB byly hodnoceny za použití dat pouze od subjektů s podezřením na TBC, zatímco data od subjektů s podezřením na MDR TBC byly zkombinovány pro posouzení účinnosti rezistence na RIF.

Vzorky pocházely od subjektů hodnocení, 61 % mužů (n=1 111), 35 % žen (n=648); u 4 % (n=76) nebylo pohlaví známo. Byli ze zeměpisně rozmanitých oblastí: 12 % (n=217) bylo z USA (Kalifornie, New York a Florida) a 88 % (n=1 618) bylo ze zemí mimo USA (Bělorusko, Brazílie, Čína, Gruzie, Německo, Indie, Itálie, Jižní Afrika, Keňa, Peru, Vietnam a Uganda). Z 1 835 vzorků bylo 1 228 odebráno prospektivně a 607 pocházelo ze zmrazených archivovaných bank vzorků.

15.2 Účinnost testu Xpert MTB/RIF Ultra ve srovnání s kulturou MTB

Od každého subjektu studie byly pro použití v klinické studii odebrány nejméně tři vzorky sputa. U prospektivních vzorků byl první vzorek sputa testován použitím testu Xpert MTB/RIF Ultra a druhé dva vzorky byly testovány na kulturu TBC. U archivovaných vzorků byly výsledky kultur dostupné z metod standardní péče a test Xpert MTB/RIF Ultra byl proveden za použití prvního vzorku o dostatečném objemu. Pokud byl výsledek analýzy neurčitý, **(CHYBA (ERROR), NEPLATNÝ (INVALID) nebo ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT))**, byly vzorky otestovány opakovaně, pokud měly dostatečný objem. Celkem 1,0 % testovaných vzorků od způsobilých subjektů (19/1 854; 95% CI: 0,7, 1,6) nebylo určeno. Stav stěru acidorezistentních bacilů (AFB) pro subjekt byl stanoven barvením stěru fluorescenčním Auraminem-O (AO) nebo dle Ziehl-Neelsena ze vzorku s odpovídajícím výsledkem testu Xpert MTB/RIF Ultra. Stav kultury MTB pro všechny subjekty byl definován na základě výsledku kultury MTB všech vzorků odebraných pro daný subjekt v sedmidenním období.

Účinnost testu Xpert MTB/RIF Ultra při detekci MTB v porovnání s kulturou MTB, stratifikovaná podle stavu stěru AFB, je zobrazena v tabulce níže. Senzitivita ve vzorcích s pozitivním stěrem a negativním stěrem byla 99,5 % (426/428), 95% CI: 98,3, 99,9, respektive 73,3 % (200/273), 95% CI: 67,7, 78,2. Celková specifita testu Xpert MTB/RIF Ultra bez ohledu na stěr AFB byla 95,5 % (1 222/1 280), 95% CI: 94,2, 96,5. Viz tabulka níže.

Tabulka 4. Účinnost testu Xpert MTB/RIF Ultra ve srovnání s kulturou MTB

		Stěr/kultura				
		Pozitivní			Negativní	Celkem
		Stěr AFB +	Stěr AFB -	Celková kultura +	Celková kultura -	
Xpert MTB/ RIF Ultra	BYLA DETEKOVÁNA MTB (MTB DETECTED)	426	200	630 ^a	58	688
	MTB NEBYLA DETEKOVÁNA (MTB NOT DETECTED)	2	73	75	1 222	1 297
	Celkem	428	273	705	1 280	1 985

Účinnost v pozitivním stěru: Senzitivita: 99,5 % (426/428), 95% CI: 98,3, 99,9
Účinnost v negativním stěru: Senzitivita: 73,3 % (200/273), 95% CI: 67,7, 78,2
Celková účinnost: Senzitivita: 89,4 % (630/705), 95% CI: 86,9, 91,4
 Specificita: 95,5 % (1 222/1 280), 95% CI: 94,2, 96,5

^a Výsledky stěru nebyly dostupné pro 4 vzorky pozitivní kultury.

Účinnost testu Xpert MTB/RIF Ultra při detekci MTB ve srovnání s kulturou MTB stratifikovaná podle pracovišť mimo USA ve srovnání s pracovišti v USA je zobrazena v tabulce níže. Mezi 1 985 vzorky bylo 1 768 vzorků z pracovišť v zemích mimo USA a 217 z pracovišť v USA.

Tabulka 5. Test Xpert MTB/RIF Ultra ve srovnání s kulturou MTB podle pracovišť mimo USA ve srovnání s pracovišti v USA

	Mimo USA		USA	
	N	Procent (95% CI)	N	Procent (95% CI)
Stěr na senzitivitu pozitivní	380/382	99,5 % (98,1, 99,9)	46/46	100,0 % (92,3, 100)
Stěr na senzitivitu negativní	180/245	73,5 % (67,6, 78,6)	20/28	71,4 % (52,9, 84,7)
Celková senzitivita	564/631 ^a	89,4 % (86,7, 91,6)	66/74	89,2 % (80,1, 94,4)
Celková specificita	1 080/1 137	95,0 % (93,6, 96,1)	142/143	99,3 % (96,1, 99,9)

^a Výsledky stěru nebyly dostupné pro 4 vzorky pozitivní kultury.

15.3 Výkon testu Xpert MTB/RIF Ultra ve srovnání s kulturou podle typu stěru

Výkon testu Xpert MTB/RIF Ultra při detekci MTB byl stanoven v porovnání s kulturou MTB ve vzorcích se stěrem AFB provedeným použitím AO a ZN. Výsledky jsou uvedeny v tabulce níže. Z 1 985 vzorků bylo 1 810 vzorků se stěry AO a 175 se stěry ZN.

Tabulka 6. Výkon testu Xpert MTB/RIF Ultra ve srovnání s kulturou MTB použitím metod barvení metodou Auramin O (AO) a podle Ziehl-Neelsena (ZN)

	Metoda Auramine O		Metoda Ziehl-Neelsen	
	N	Procent (95% CI)	N	Procent (95% CI)
Stěr na citlivost pozitivní	386/388	99,5 % (98,1, 99,9)	40/40	100 % (91,2, 100)
Stěr na citlivost negativní	153/219	69,9 % (63,5, 75,6)	47/54	87,0 % (75,6, 93,6)
Celková citlivost	543/611 ^a	88,9 % (86,1, 91,1)	87/94	92,6 % (85,4, 96,3)
Celková specifická	1 145/1 199	95,5 % (94,2, 96,5)	77/81	95,1 % (88,0, 98,1)

^a Výsledky stěru nebyly dostupné pro 4 vzorky pozitivní kultury.

15.4 Výkon testu Xpert MTB/RIF Ultra ve srovnání s kulturou podle typu vzorku

Výkon testu Xpert MTB/RIF Ultra při detekci MTB byl stanoven ve srovnání s kulturou MTB ve vzorcích nezpracovaného sputa a sedimentu koncentrovaného sputa. Výsledky jsou uvedeny v tabulce níže. Mezi 1 985 vzorky bylo 1 543 vzorků nezpracovaného sputa a 442 vzorků sedimentu koncentrovaného sputa.

Tabulka 7. Test Xpert MTB/RIF Ultra ve srovnání s kulturou MTB podle typu vzorku

	Přímé sputum		Sedimenty sputa	
	N	% (95% CI)	N	% (95% CI)
Stěr na citlivost pozitivní	323/324	99,7 % (98,3, 99,9)	103/104	99,0 % (94,8, 99,8)
Stěr na citlivost negativní	168/229	73,4 % (67,3, 78,7)	32/44	72,7 % (58,2, 83,7)
Celková citlivost	495/557 ^a	88,9 % (86,0, 91,2)	135/148	91,2 % (85,6, 94,8)
Celková specifická	937/986	95,0 % (93,5, 96,2)	285/294	96,9 % (94,3, 98,4)

^a Výsledky stěru nebyly dostupné pro 4 vzorky pozitivní kultury.

15.5 Výkon testu Xpert MTB/RIF Ultra ve srovnání s testováním citlivosti na RIF

Izoláty pozitivní kultury MTB byly testovány na citlivost na léčivo (DST) RIF za použití metody poměru agaru metodou Middlebrook nebo Lowenstein-Jensen, Thermo Scientific Sensititre™ destičky Mycobacterium tuberculosis MIC nebo testu BD BACTEC™ MGIT™ 960 SIRE. Výkon testu Xpert MTB/RIF Ultra při detekci mutací spojených s rezistencí na RIF byl stanoven v porovnání s výsledky DST izolátů kultury MTB.

Výsledky detekce mutací spojených s rezistencí na RIF jsou testem Xpert MTB/RIF Ultra hlášeny pouze v případě, že prostředek detekoval sekvenci genu *rpoB* komplexu MTB. Výkon citlivosti/rezistence na RIF jsou hlášeny v tabulce níže. Vzorky s DST nebyly provedeny, **MTB NEBYLA DETEKOVÁNA (MTB NOT DETECTED)** a **MTB BYLA DETEKOVÁNA; rezistence na RIF NEURČITÁ (MTB DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)** byly z analýzy vyřazeny. Šedesát tři (63) ze 67 vzorků s neurčitými výsledky RIF byly **BYLA DETEKOVÁNA stopa MTB; rezistence na RIF NEURČITÁ (MTB Trace DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)**.

Tabulka 8. Výkon testu Xpert MTB/RIF Ultra ve srovnání s DST

Test citlivosti na lék				
		Rezistence na RIF	Citlivost na RIF	Celkem
Xpert MTB/ RIF Ultra	BYLA DETEKOVÁNA MTB; BYLA DETEKOVÁNA rezistence na RIF	128	12 ^a	140
	BYLA DETEKOVÁNA MTB; NEBYLA DETEKOVÁNA rezistence na RIF	5 ^b	314	319
	Celkem	133	326	459
		Citlivost: 96,2 % (128/133), 95% CI: 91,5, 98,4 Specificita: 96,3 % (314/326), 95% CI: 93,7, 97,9		

^a Rozporné výsledky sekvenování: 11 z 12 bylo rezistentních na RIF, 1 z 12 nebyl k dispozici.

^b Rozporné výsledky sekvenování: 4 z 5 byly citlivé na RIF, 1 z 5 nebyl k dispozici.

15.6 Výkon testu Xpert MTB/RIF Ultra ve srovnání s testem Xpert MTB/RIF

Jeden tisíc pět set devadesát čtyři (1 594) vzorků bylo testováno použitím testu Xpert MTB/RIF Ultra i testu Xpert MTB/RIF. Celková procentuální shoda mezi testy byla 96,5 % [(1538/1594) 95% CI: 95,5, 97,3]. Pozitivní procentuální shoda a negativní procentuální shoda byly 99,2 % [(491/495) 95% CI: 97,9, 99,7], respektive 95,3 % [(1047/1099) 95% CI: 93,8, 96,4].

15.7 Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost testu Xpert MTB/RIF Ultra byla hodnocena na třech pracovištích pomocí panelu vzorků obsahujícího kmeny citlivé a rezistentní na MTB rifampin. Vzorky pozitivní na MTB byly připraveny v simulované matici sputa při nízké (~1x LoD) a mírné koncentraci (2-3x LoD). Byl rovněž zahrnut negativní člen panelu, který sestával ze simulované matice sputa. Panel pěti vzorků byl testován v průběhu šesti různých dní dvěma různými operátory dvakrát denně na každém ze tří pracovišť (240 testů na každém pracovišti = 2 operátoři × 6 dní × 2 replikáty × 2 cykly denně). Ve studii byly použity tři šarže soupravy reagentů testu Xpert MTB/RIF Ultra. Procentuální shoda pro každého člena panelu je uvedena podle pracoviště v Tabulce 9.

Tabulka 9. Souhrn výsledků reprodukovatelnosti – shoda podle studijního pracoviště / přístroje

Vzorek	Pracoviště 1 (GeneXpert Dx)	Pracoviště 2 (GeneXpert Dx)	Pracoviště 3 (Infinity-90)	Celková shoda podle vzorku v %
Negativní	98 % (47/48)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	99,3 % (143/144)
MTB nížce pozitivní, Rezistence na RIF	96 % (46/48)	96 % (46/48)	98 % (47/48)	96,5 % (139/144)
MTB mírně pozitivní, Rezistence na RIF	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
MTB nížce pozitivní, Citlivý na RIF	100 % (48/48)	100 % (48/48)	98 % (47/48)	99,3 % (143/144)
MTB mírně pozitivní, Citlivý na RIF	100 % (47/47)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (143/143)

Reprodukovatelnost testu Xpert MTB/RIF Ultra byla také hodnocena z hlediska fluorescenčního signálu vyjádřeného v hodnotách prahu cyklů (Ct) pro každý detekovaný cíl. Střední hodnota, směrodatná odchylka (SD) a variační koeficient (CV) mezi pracovišti, mezi dny, mezi operátory a v rámci složek cyklů pro každý člen panelu uvádí tabulka 10. Cyklus je definován jako testování čtyř vzorků od každého člena panelu jedním operátorem na jednom pracovišti během jednoho dne.

16 Analytické charakteristiky účinnosti

Tabulka 10. Souhrn údajů o reprodukovatelnosti

Vzorek	N	Střední hodnota Ct	Odchylka												
			Mezi pracovišti		Mezi šaržemi		Mezi dny		Mezi operátory		V rámci cyklu / analýzy		Celkem		
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	
Negativní	SPCt	144	25,7	0,00	0,0	0,30	1,1	0,00	0,0	0,70	2,8	1,40	5,5	1,60	6,3
MTB nížce pozitivní, rezistentní na RIF	ICt	144	20,0	0,00	0,0	0,20	1,1	0,00	0,0	0,40	2,0	0,90	4,6	1,00	5,1
	rpo1C	141	31,0	0,00	0,0	0,50	1,6	0,00	0,0	0,60	2,0	2,20	7,2	2,40	7,7
	rpo2C	141	29,8	0,20	0,7	0,40	1,4	0,00	0,0	0,80	2,5	2,10	7,1	2,30	7,7
	rpo3C	139	33,8	0,20	0,6	0,60	1,9	0,00	0,0	0,70	2,0	2,00	5,9	0,20	6,5
	rpo4C	141	30,4	0,80	2,5	0,50	1,7	0,00	0,0	0,80	2,5	2,50	8,4	2,80	9,2
MTB středně pozitivní, rezistentní na RIF	ICt	144	18,4	0,30	1,4	0,00	0,0	0,10	0,5	0,10	0,3	0,70	3,7	0,80	4,1
	rpo1C	143	28,3	0,40	1,5	0,00	0,0	0,50	1,8	0,00	0,0	1,80	6,4	1,90	6,8
	rpo2C	144	27,2	0,50	1,8	0,00	0,0	0,50	1,8	0,00	0,0	1,80	6,7	1,90	7,1
	rpo3C	143	31,1	0,10	0,4	0,00	0,0	0,50	1,6	0,00	0,0	1,70	5,6	1,80	5,8
	rpo4C	144	27,2	0,80	3,1	0,00	0,0	0,70	2,4	0,00	0,0	2,20	8,0	2,40	8,9
MTB nížce pozitivní, citlivý na RIF	ICt	143	23,7	0,00	0,0	0,20	0,6	0,40	1,6	0,00	0,0	1,70	7,4	1,80	7,6
	rpo1C	130	30,2	0,10	0,3	0,00	0,0	0,90	3,0	0,00	0,0	2,60	8,4	2,70	9,0
	rpo2C	130	29,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,80	2,6	0,00	0,0	2,40	8,1	2,50	8,5
	rpo3C	130	31,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,80	2,6	0,20	0,7	2,30	7,4	2,50	7,8
	rpo4C	120	36,1	0,30	0,9	0,40	1,1	0,00	0,0	0,50	1,4	2,10	5,7	2,20	6,1
MTB středně pozitivní, citlivý na RIF	ICt	143	21,8	0,10	0,6	0,00	0,0	0,20	1,1	0,00	0,0	1,20	5,4	1,20	5,5
	rpo1C	142	27,6	0,20	0,7	0,00	0,0	0,30	1,2	0,00	0,0	2,00	7,2	2,00	7,3
	rpo2C	141	26,7	0,00	0,0	0,40	1,4	0,00	0,0	0,10	0,2	1,60	5,9	1,60	6,1

Vzorek	N	Střední hodnota Ct	Odchylka											
			Mezi pracovišti		Mezi šaržemi		Mezi dny		Mezi operátory		V rámci cyklu / analýzy		Celkem	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
rpo3C	141	28,9	0,00	0,0	0,30	1,1	0,00	0,0	0,50	1,7	1,70	5,7	1,70	6,0
rpo4C	140	33,9	0,70	2,0	0,60	1,7	0,00	0,0	0,00	0,0	2,00	5,9	2,20	6,5

16.1 Interferující látky

Studie prováděná na matici umělého sputa měla za cíl posoudit účinky látek potenciálně interferujících s testem Xpert MTB/RIF Ultra. Bylo vyhodnoceno celkem 32 potenciálně interferujících látek. Potenciálně interferující endogenní látky mohou mimo jiné zahrnovat krev, hnis (bílé krvinky), buňky z dýchacího ústrojí, mucin, lidskou DNA a žaludeční kyselinu ze žaludku. Ostatní potenciálně interferující látky mohou zahrnovat anestetika, antibiotika, antibakteriální léky, antituberkulóza, antivirotika, bronchodilatátory, inhalační bronchodilatátory, živou intranazální vakcínu proti viru chřipky, germicidní ústní vodu, reagentie pro zpracování vzorků léky proti *Pneumocystis jirovecii*, homeopatická léčiva na úlevu od alergie, nosní kortikosteroidy, nosní gely, nosní spreje, perorální anestetika, perorální expektorans, neutralizační pufr a tabák. Tyto látky uvádí Tabulka 11 s účinnými složkami a testovanými koncentracemi. V této studii byly zahrnuty pozitivní a negativní vzorky. Pozitivní vzorky byly testovány při téměř trojnásobku analytického limitu detekce za použití buněk BCG v replikátech po 8. Pro každou látku byly testovány negativní vzorky sestávající z látky nepřítomné v kmenu MTB, a to v replikátech po 8, aby se určil vliv na účinnost kontroly zpracování vzorku (Sample processing control, SPC).

U žádné z těchto 32 potenciálně interferujících látek nebyly pozorovány žádné inhibiční účinky (Tabulka 11).

Tabulka 11. Interferující látky

Látka	Popis / účinná složka	Testovaná koncentrace
Krev	Krev (lidská)	5 % (obj./obj.)
Germicidní ústní voda	Chlorhexidin glukonát (0,12 %), 20% roztok	20 % (obj./obj.)
Reagentie pro zpracování vzorků	Cetylpyridiniumchlorid, 1 % ve 2% NaCl	0,5 % (obj./obj.) v 1% NaCl
Reagentie pro zpracování vzorků	Cetylpyridiniumchlorid, 1 % ve 2% NALC	0,5 % (obj./obj.) v 1% NALC
Reagentie pro zpracování vzorků	Cetylpyridiniumchlorid, 1 % ve 2% NALC plus 25 mM citrátu	0,5 % (obj./obj.) v 1% NALC plus 12,5 mM citrátu
Žaludeční kyselina	Vodný roztok o pH 3 až 4, neutralizovaný hydrogenuhličitanem sodným	100 % (obj./obj.)
Lidská DNA/buňky	HELA 229	10 ⁶ buněk/ml
Antimykotika; antibiotika	Nystatin perorální suspenze, 20 %	20 % (obj./obj.)
Bílé krvinky (lidské)	Bílé krvinky/matice hnisu (30 % buffy coat; 30 % plazma; 40 % PBS)	100 % (obj./obj.)
Anestetika (endotracheální intubace)	Lidocain HCl 4%	30 % (obj./obj.)
Nebulizační roztoky	NaCl 5 % (hm./obj.)	5 % (hm./obj.)
Mucin	Mucin 5 % (hm./obj.)	5 % (hm./obj.)
Antibakteriální, systémový	Levofloxacin 25 mg/ml	5 mg/ml (hm./obj.)
Nosní kortikosteroidy	Flutikason 500 µg/sprej	5 µg/ml (hm./obj.)

Látka	Popis / účinná složka	Testovaná koncentrace
Inhalační bronchodilatátory	Albuterol sulfát 2,5 mg / 3 ml	75 µg/ml (hm./obj.)
Perorální anestetika	Orajel (Benzokain 20 %)	5 % (hm./obj.)
Antivirotika	Acyclovir, IV 50 mg/ml	50 µg/ml (hm./obj.)
Antibiotikum, nosní mast	Neosporin (Bacitracin 400 jednotek, Neomycin 3,5 mg, Polymyxin B 5 000 jednotek)	5 % (hm./obj.)
Tabák	Nicogel (40% tabákový extrakt)	0,5 % (hm./obj.)
Antituberkulóza	Streptomycin 1 mg/ml	25 µg/ml (hm./obj.)
Antituberkulóza	Ethambutol 1 mg/ml	50 µg/ml (hm./obj.)
Antituberkulóza	Isoniazid 1 mg/ml	50 µg/ml (hm./obj.)
Perorální expektoranty	Guaifenesin (400 mg/tableta)	5 mg/ml (hm./obj.)
Antituberkulóza	Pyrazinamid 10 mg/ml	10 µg/ml (hm./obj.)
Nosní gel (homeopatikum)	Gel Zicam	50 % (hm./obj.)
Nosní sprej	Fenylefrin 0,5 %	1 % (hm./obj.)
Antituberkulóza	Rifampicin 1 mg/ml	25 µg/ml (hm./obj.)
Přípravek na úlevu od alergie (homeopatikum)	Tea tree oil (<5% Cineole, >35 % Terpinen-4-ol)	0,5 % (hm./obj.)
Živá intranazální vakcína proti viru chřipky	Živá vakcína proti viru chřipky FluMist	5 % (hm./obj.)
Lék proti <i>Pneumocystis jirovecii</i>	Pentamidin	300 ng/ml (hm./obj.)
Bronchodilatátor	Epinefrin (injikovatelné složení)	1 mg/ml (hm./obj.)
Antituberkulóza	Amoxicillin	25 µg/ml (hm./obj.)

16.2 Analytická senzitivita (limit detekce)

Byly provedeny studie na stanovení analytické senzitivity neboli limitu detekce (LoD) testu Xpert MTB/RIF Ultra za použití kmenu *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv a *Mycobacterium bovis* BCG (Bacille Calmette-Guerin) rozředěných v lidském sputu a sedimentu lidského sputa. Pozitivní výsledek MTB se zakládá na detekci cílů IS1081/IS6110.

Dále byly provedeny studie pro stanovení analytické senzitivity neboli limitu detekce testu Xpert MTB/RIF Ultra pro detekci rezistence RIF za použití dobře charakterizovaného kmenu *Mycobacterium tuberculosis* rezistentního na rifampin (TDR125) nesoucího mutaci D516V v „hlavním“ regionu 81bázového páru genu *rpoB* rozředěného v lidském sputu a sedimentu lidského sputa.

LoD je nejnižší koncentrace hlášená v CFU/ml, kterou lze reprodukovatelně odlišit od negativních vzorků s 95% spolehlivostí. Dva kmeny obsahující nejméně 20 replikátů při pěti až osmi koncentracích byly vyhodnocovány po dobu 3 dnů a LoD byl stanoven za použití analýzy probit. Uvedené hodnoty LoD jsou shrnuty v tabulce níže.

Tabulka 12. Data z analýzy probit a uvedené hodnoty LoD v CFU/ml

Druhy mykobakterií	Typ vzorku	Uvedené hodnoty LoD
<i>M. bovis</i> (BCG)	Sputum	30
	Sediment sputa	21
<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	Sputum	12
	Sediment sputa	25

Tabulka 13. Data z analýzy probit a uvedené hodnoty LoD rezistence na RIF v CFU/ml

Druhy mykobakterií	Typ vzorku	Uvedené hodnoty LoD
<i>M. tuberculosis</i> (TDR125)	Sputum	1 093
	Sediment sputa	4 000

16.3 Analytická specifita (exkluzivita)

Testem Xpert MTB/RIF Ultra byly testovány kultury 30 kmenů netuberkulózních mykobakterií (NTM). Tři replikáty každého izolátu byly přidány do pufru a testovány v koncentraci $\geq 10^7$ CFU/ml. Viz Tabulka 14.

Tabulka 14. Kmeny NTM testované z hlediska specifity

<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>avium</i>	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>
<i>Mycobacterium celatum</i>	<i>Mycobacterium simiae</i>
<i>Mycobacterium chelonae</i>	<i>Mycobacterium szulgai</i>
<i>Mycobacterium gordonae</i>	<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>
<i>Mycobacterium haemophilum</i>	<i>Mycobacterium triviale</i>
<i>Mycobacterium abscessus</i>	<i>Mycobacterium vaccae</i>
<i>Mycobacterium asiaticum</i>	<i>Mycobacterium xenopi</i>
<i>Mycobacterium flavescens</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Mycobacterium fortuitum</i> subsp. <i>fortuitum</i>	<i>Mycobacterium interjectum</i>
<i>Mycobacterium gastri</i>	<i>Mycobacterium peregrinum</i>
<i>Mycobacterium genavense</i>	<i>Mycobacterium mucogenicum</i>
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Mycobacterium goodii</i>
<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Mycobacterium shimoidei</i>
<i>Mycobacterium malmoense</i>	<i>Mycobacterium phlei</i>
<i>Mycobacterium marinum</i>	<i>Mycobacterium terrae</i>

Za podmínek studie byly všechny izoláty NTM vykázaný jako **MTB NEBYLA DETEKOVÁNA (MTB NOT DETECTED)**. Do studie byly zahrnuty pozitivní a negativní kontroly. Specifita byla 100 %.

Kromě toho, aby se zjistilo, zda vysoké koncentrace NTM budou interferovat s detekcí nízkých hladin (3x LoD) TBC, bylo šest reprezentativních kmenů uvedených v Tabulka 14 smícháno s kmenem TBC H37Rv a s *M. bovis* ve sputu na konečnou koncentraci 10^6 CFU/ml NTM a 36 CFU/ml *M. tuberculosis* H37Rv resp. 90 CFU/ml *M. bovis*.

Zjištěné kmeny NTM testované na schopnost interferovat s TBC (H37Rv) zahrnovaly:

- *M. abscessus*, ATCC 19 977
- *M. avium*, klinické izoláty National Jewish Hospital

- *M. celatum*, klinické izoláty National Jewish Hospital
- *M. kansasii*, ATCC 12 478
- *M. gordonae*, ATCC 14 470
- *M. intracellulare*, klinické izoláty National Jewish Hospital

Testované kmeny NTM neinterferovaly s detekcí 36 CFU/ml *M. tuberculosis* (H37Rv) ani 90 CFU/ml *M. bovis*; signály byly tedy stejné jako při testování samotného H37Rv.

16.4 Druhy/kmeny testované z hlediska specifity

V testu Xpert MTB/RIF Ultra byly na zjištění falešné pozitivivity testovány následující mikroorganismy, včetně gram-negativních bakterií, gram-pozitivních bakterií, plísňových organismů, virů a kvasinek. Replikáty každého izolátu byly přidány do pufru a testovány v koncentraci $\geq 10^7$ CFU/ml (kmeny bakterií a plísní) nebo $\geq 10^6$ kopií/ml (genomová DNA pro bakterie a plísně) a $\geq 10^5$ TCID₅₀ /ml (kmeny virů).

Tabulka 15. Druhy a kmeny

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Respirační syncytiální virus typu B
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	Rhinovirus
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	Staphylococcus aureus
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	Staphylococcus epidermidis
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Nocardia asteroides</i>	Stenotrophomonas maltophilia
<i>Corynebacterium xerosis</i>	Virus parainfluenzy typu 1	Streptococcus agalactiae
Coronavirus	Virus parainfluenzy typu 2	Streptococcus mitis
<i>Enterobacter cloacae</i>	Virus parainfluenzy typu 3	Streptococcus mutans
<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Streptococcus pneumoniae
<i>Haemophilus influenzae</i>	Respirační syncytiální virus typu A	Streptococcus pyogenes
Lidský metapneumovirus (hMPV) 16 typu A1		

Za podmínek studie byly všechny testované mikroorganismy hlášeny jako **MTB NEBYLA DETEKOVÁNA (MTB NOT DETECTED)**. Do studie byly zahrnuty pozitivní a negativní kontroly. Specifita byla 100 %.

16.5 Analytická inkluzivita

Třicet sedm kmenů komplexu MTB sestávajících z 16 kmenů citlivých na rifampin s hlavním regionem divokého typu *rpoB* a 21 kmenů rezistentních na rifampin byly testovány za použití testu Xpert MTB/RIF Ultra. Vzorky DNA z celkového počtu 37 kmenů MTB byly testovány systémem GeneXpert za použití protokolu Xpert MTB/RIF Ultra modifikovaného pro testování DNA. Konečné komponenty reakce a podmínky cyklování PCR zůstaly oproti protokolu zkoncipovanému pro testování vzorků pacientů nezměněny. Dvanáct (12) kmenů pocházelo ze sbírky WHO/TDR a šest z laboratorní sbírky Rutgersovy univerzity. Souborně tyto kmeny představují izoláty z 8 zemí a zahrnovaly 21 izolátů rezistentních na RIF, které obsahovaly jednoduché, dvojitě a jednou trojitě mutace v hlavním regionu *rpoB*. Vzorky byly testovány přidáním 100 µl vzorku DNA do lyzátové komory kazety. U negativních reakcí se jako vzorek používal pufr. Analýza správně identifikovala všech 16 kmenů divokého typu a správně identifikovala i rezistenci na rifampin u 18 z 21 kmenů rezistentních na rifampin s mutacemi v hlavním regionu *rpoB*. U 3 mutantních kmenů byly získány neurčité výsledky s rifampicinem. *M. caprae* a *M. pinnipedii* nebyly v rámci této studie hodnoceny.

16.6 Analytická inaktivace mykobakterií ve vzorcích sputa

Desinfekční schopnost vzorkové reagentie Xpert MTB/RIF Ultra byla stanovena za použití standardizované metody kvantitativní tuberkulocidní kultivace.¹² Vzorky sputa byly obohaceny vysokou koncentrací životaschopných *M. bovis* smíšených v poměru 2:1 se vzorkovou reagentií a inkubovaných po dobu 15 minut. Po inkubaci byla směs vzorkové reagentie a sputa neutralizována naředěním a filtrací a poté byla kultivována. Životaschopnost organismů *M. bovis* z ošetřeného sputa byla ve srovnání s neošetřenou kontrolou snížena alespoň o 6 logů.

Každá laboratoř musí stanovit účinnost desinfekční schopnosti vzorkové reagentie za použití vlastních standardizovaných metod a musí dodržovat doporučená nařízení o biologické bezpečnosti.

17 Literatura

1. WHO report 2018. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274453/9789241565646-eng.pdf?ua=1>.
2. WHO Global TB Report 2019. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329368/9789241565714-eng.pdf>.
3. Anti-tuberculosis resistance in the world: fourth global report. WHO/HTM/TB/2008.394.
4. Morris SL, Bai GH, Suffys P, Portillo-Gomez L, Fairchok M, Rouse D. Molecular mechanisms of multidrug resistance in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis*. 1995. 171:954-60.
5. Rattan A, Kalia A, Ahmad N. 1998. Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis*: Molecular Perspectives, *Emerging Infectious Diseases*, Vol.4 No.2, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/rattan.htm>.
6. Francis J. Curry National Tuberculosis Center and California Department of Public Health, 2008: Drug-Resistant Tuberculosis, A Survival Guide for Clinicians, Second Edition.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 1993. Richmond JY and McKinney RW (eds). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Dokument M29 (viz poslední vydání).
9. Přehled pokynů pro bezpečné zacházení, NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1272/2008 ze dne 16. prosince 2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, o změně a zrušení směrnic 67/548/EHS a 1999/45/ES a o změně nařízení (ES) č. 1907/2006.
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazardous Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpart Z).
11. Kent PT, Kubica GP. 1985. Public Health Mycobacteriology—*A Guide for Level III Laboratory*, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546.
12. Banada, P. et al. Containment of Bioaerosol Infection Risk by the Xpert MTB/RIF Assay and Its Applicability to Point-of-Care Settings. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010. 48:10. 3551-3557.

18 Hlavní sídla společnosti Cepheid

Podniková centrála

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefon: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Evropská centrála

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefon: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

19 Technická pomoc

Dříve, než nás kontaktujete

Dříve, než kontaktujete technickou podporu společnosti Cepheid, připravte si následující informace:

- Název produktu
- Číslo šarže
- Sériové číslo přístroje
- Chybové zprávy (pokud je to relevantní)
- Verze softwaru a (pokud je to relevantní) číslo servisního štítku počítače

Spojené státy americké




Telefon: + 1 888 838 3222 E-mail: techsupport@cepheid.com

















Francie

Telefon: + 33 563 825 319 E-mail: support@cepheideurope.com

Kontaktní informace všech kanceláří technické podpory společnosti Cepheid jsou uvedeny na našem webu: www.cepheid.com/en/support/contact-us

20 Tabulka značek

Značka	Význam
	Katalogové číslo
	Zdravotnický diagnostický prostředek <i>in vitro</i>
	Nepoužívat opakovaně

Značka	Význam
	Kód šarže
	Čtete návod k použití
	Upozornění
	Výrobce
	Země výroby
	Obsahuje dostatečné množství pro <i>n</i> testů
	Kontrola
	Datum expirace
	Označení CE – Evropská shoda
	Teplotní limit
	Biologická rizika
	Hořlavé kapaliny
	Poleptání kůže
	Toxicita pro reprodukci a toxicita pro orgány
	Zplnomocněný zástupce ve Švýcarsku
	Dovozce



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



21 Historie revizí

Část	Popis změny
Tabulka značek	Přidány symboly CH REP a dovozce a jejich definice do tabulky symbolů. Přidány informace o CH REP a dovozci se švýcarskou adresou.
Historie revizí	Aktualizována tabulka Historie revizí.